

ГЕКСААЗОИЗОВЮРЦИТАН – АНАЛЬГЕТИК НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

К.А. Лопатина, Е.А. Сафонова, О.Ю. Рыбалкина

Научный руководитель: в.н.с., д.б.н. С.Г. Крылова

«Томский национальный исследовательский медицинский центр

Российской академии наук», Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной

медицины имени Е.Д. Гольдберга,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 3, 634028

E-mail: k.lopatina@pharmso.ru

BIOCOMPOSITES FOR BONE TISSUE REGENERATION

K.A. Lopatina, E.A. Safonova, O.Y. Rybalkina

Scientific Supervisor: Dr. Krylova S.G.

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk NRMC, Russia, Tomsk, Lenin

ave., 3, 634028

E-mail: k.lopatina@pharmso.ru

Abstract. *The results of the expressed analgesic activity of the novel compound 4- (3,4-dibromothiophenecarbonyl) -2,6,8,12-tetraacetyl-2,4,6,8,10,12 hexa-azatetracyclo [5,5,0,0,3,11, 05.9] dodecane (tioviurcin) were obtained under the conditions of the chemogenic activation model of the TRPA1 channel "formalin test" and in the selective test with agonist TRPV1 channels "Capsaicin test". It was found that tioviurcin in the preventive single intragastric administration via the probe at doses of 100 and 200 mg / kg effectively blocks nociceptive reactions caused by activation of TRPA1 and TRPV1 ion channels.*

Введение. В настоящее время одним из новых направлений фармацевтики является поиск кандидатов для создания на их основе ненаркотических анальгетиков для купирования сильной и средней боли. Объектом настоящего исследования явилось соединение 4-(3,4-дибромтио-фенкарбонил)-2,6,8,12тетраацетил-2,4,6,8,10,12гексаазатетрацикло[5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}] додекан (далее тиовюрцин). Пилотные исследования острой токсичности показали, что тиовюрцин соответствует требованиям 4 класса опасности «вещества малоопасные». Цель исследования - изучение анальгетической активности тиовюрцина в условиях формалинового и капсаицинового теста на мышах.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 50 аутбредных половозрелых мышах-самцах CD1, 48 мышах-самцах линии СВА (возраст 7-8 недель), первой категории, конвенциональных. Животные получены из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ (сертификат здоровья животных). Содержание животных и дизайн экспериментов были одобрены Биоэтическим комитетом НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (протокол JACUC №96092015) и соответствовали директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях; Приказу МЗ РФ от 1 августа 2016 N 199н [1]. Исследуемая инновационная молекула представляет собой полиазотистое полициклическое соединение каркасного строения – 4-(3,4-дибромтиофенкарбонил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12 гексаазатетрацикло [5,5,0,0,3,11,05,9] додекан.

Тиовюрцин вводили превентивно однократно внутрь через зонд в диапазоне доз 50-200 мг/кг. В качестве препаратов сравнения использовали диклофенак в дозе 10 мг/кг, кеторолак – в дозе 6 мг/кг. Через 1 ч после введения препаратов инъецировали 20 мкл 2 % водного раствора формалина (формалиновый тест) или 10 мкл раствора капсаицина (капсаициновый тест) интраплантарно в подушечку задней лапы. Интенсивность болевого ответа регистрировали по количеству и продолжительности паттернов болевых реакций (облизываний, потряхиваний) инъецированной лапы в течение 60 минут (формалиновый тест) 15 мин (капсаициновый тест) для каждой мыши.

Для всех данных применена описательная статистика: подсчитаны среднее значение и стандартная ошибка среднего. Межгрупповые различия оценены с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни и углового преобразования Фишера (ф). При $p < 0,05$ различия считали достоверными.

Результаты и обсуждение. Первая фаза формалинового теста характеризует острую боль, возникающую в ответ на инъекцию химического раздражителя, и связана в основном с прямой активацией тонких немиелиновых С-волокон, большинство из которых передаёт импульсацию от болевых рецепторов, в данном случае TRPA1 каналов [2, 3]. Во II фазе формалинового воспаления тиовюрцин в дозах 100 и 200 мг/кг уменьшал количество типичной для данного теста поведенческой реакции облизывания лап в 3,4 раза ($P < 0,05$) и 3,2 раза ($P < 0,05$) относительно данных контрольной группы (рис. 1).

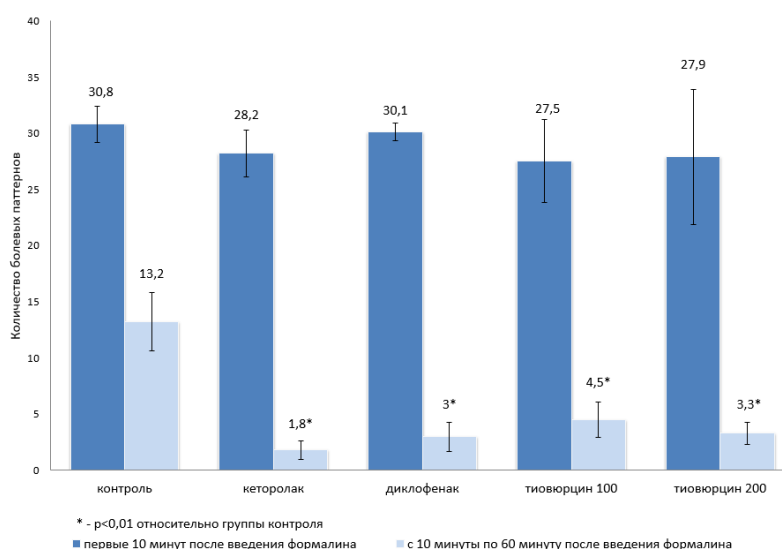


Рис. 1. Болевая реакция у мышей в интервале 40-50 мин после введения формалина

Применение кеторолака вызывало значительное снижение выраженности болевой реакции в ответ на введение капсаицина у мышей-самцов линии СВА: увеличение в 4,2 раза ($P < 0,05$) латентного периода развития болевого ответа, снижение количества облизываний в 1,9 раза ($P < 0,05$), числа встряхиваний лапы – в 3,5 раза ($P < 0,05$) относительно аналогичных данных контрольной группы. При этом продолжительность болевой реакции снизилась в 2,4 раза ($P < 0,01$).

Механизм развития болевой реакции связан с активацией ионных каналов на ноцицепторах в тканях при химическом и механическом повреждении. Такое повреждение успешно провоцируется введением капсаицина – прямого агониста TRPV1 каналов [4, 5]. В капсаициновом тесте тиовюрцин проявил

дозозависимый анальгетический эффект, сравнимый по выраженности с препаратом сравнения кеторолаком. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели обезболивающей активности тиовюрцина при превентивном однократном внутрижелудочном введении в условиях «Капсаицинового теста» у мышей-самцов линии СВА ($X \pm m$)

Группа животных, доза препарата (число животных)	Латентное время болевой реакции, с	Количество		Суммарное время облизываний, с	Продолжительность болевой реакции, с
		облизываний	встряхиваний		
1. Контроль вода очищенная, (n=8)	8,8±1,8	9,4±1,6	5,6±1,3	86,6±20,6	820,0±31,1
2. Кеторолак, 6 мг/кг (n=10)	36,6±13,1*	5,0±0,9*	1,6±0,5*	38,4±16,5	347,6±79,6*
3. Тиовюрцин, 50 мг/кг (n=10)	62,8±21,6*	8,7±2,0	2,6±1,0	82,0±35,1	579,4±57,9*
4. Тиовюрцин, 100 мг/кг (n=9)	18,7±5,0*	6,3±0,9	1,4±0,4**	30,4±10,2**	421,4±75,0*
5. Тиовюрцин, 200 мг/кг (n=10)	61,2±20,1*	5,2±1,2*	1,6±0,7*	20,6±5,0**	326,6±86,4*

Выводы. Таким образом, исследования инновационной молекулы в условиях моделей «Капсаициновый тест» и «Формалиновый тест» свидетельствуют об его взаимодействии с биомиметическими TRPV1 и TRPA, обуславливающим выраженный анальгетический эффект. По совокупности полученных данных можно заключить, что малотоксичное соединение тиовюрцин эффективно блокирует ноцицептивные реакции на супраспинальном и периферическом уровнях организации болевой чувствительности, что обуславливает перспективность дальнейшего его исследования в качестве анальгетического средства. Данная работа выполняется в рамках реализации Государственного контракта № 14.N08.11.0179 для выполнения прикладных научных исследований и экспериментальных разработок для государственных нужд.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова [и др.] – Москва: Гриф и К, 2013. – 944
2. McNamara C.R., Mandel-Brehm J., Bautista D.M. et al. (2007). TRPA1 mediates formalin-induced pain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, no.104(33), pp.13525–13530.
3. Чайка А.В., Черетаев И.В., Хусаинов Д.Р. Методы экспериментального доклинического тестирования анальгетического действия различных факторов на лабораторных крысах и мышах // *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия.* – 2015. – Т. 1. – № 1 (67). – С. 161–173.
4. Ruigrok H. J., Shahid G., Goudeau B. et al. (2017). Full-Spectral Multiplexing of Bioluminescence Resonance Energy Transfer in Three TRPV Channels. *Biophysical Journal*, no. 112, pp. 87–98.
5. Moiseenkova-Bell V.Y., Wensel T.G. (2009). Hot on the trail of TRP Channel Structure. *The Journal of General Physiology*, no. 133(3), pp. 239–244.